Münster 1936 No 797 Med Diss

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Körpereigene Wirkstoffe und Trypsinwirkung. Versuche mit Gelatine, Casein, Muskel- und Lebergewebe.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität zu Münster (Westf.)

vorgelegt von

Alfred Krumfuss
aus Langenberg (Rhld.)

1936

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei von Robert Kleinert in Quakenbrück.

Dekan: Professor Dr. Jötten.
Referent: Privatdozent Dr. Haarmann.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. Westf.

Die vorliegenden Untersuchungen dienten zur Feststellung, ob bei der Trypsinverdauung von Eiweißkörpern oder tierischem Gewebe pharmakologisch wirksame Stoffe gebildet und ob präformierte Wirkstoffe dabei verändert werden. Die Fragestellung, die zu diesen Versuchen geführt hat, ist die Möglichkeit der Entstehung von Krankheitserscheinungen durch die Resorption von Eiweißabbauprodukten aus dem Darminhalt, die besondere pharmakologische Wirkungen entfalten können. Es kommen also dafür nur niedrigmolekulare Abbaustoffe in Betracht, die nicht mit den üblichen Enteiweißungsmethoden ausgefällt werden und die dialysabel sind. Die Entstehung solcher Substanzen unter der Wirkung abbauender Fermente ist in letzter Zeit von Surmann und Dortmann in Angriff genommen worden, welche die Wirkung von Papain und Pepsin zu untersuchen hatten. Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war die Frage, ob die Trypsinverdauung Stoffe von pharmakologischer Wirksamkeit aus verschiedenem Ausgangsmaterial entstehen läßt. Im allgemeinen gelten, wie Schittenhelm und Weichardt[1]) geezigt haben, die nativen Eiweißstoffe als ungiftig. — Höhere Abbaustufen, die bei unserer Fragestellung nicht in Betracht kommen, können giftig sein; es sind dies die Verbindungen, die möglicherweise beim parenteralen Eiweißabbau eine Rolle spielen, so bei der Anaphylaxie, bei den Infektionen, bei der Resorption zerfallender Körpersubstanz usw. — Das Trypsin läßt diese Substanzen kaum entstehen, sondern greift erst an ihnen an und baut sie zu den im all

[1]) Zeitschr. exper. Path. u. Ther. Bd. 11, 69 (1912).

gemeinen ungiftigen Aminosäuren ab. In dem Ausgangsmaterial, welches in der vorliegenden Arbeit verwandt wurde, sind zum Teil wirksame Stoffe präformiert und nachweisbar, die nicht aus dem Eiweißabbau entstanden zu sein brauchen. Dabei ist in erster Linie an die Cholinabkömmlinge und an die Gruppe der Adenylsäure zu denken. Sowohl eine Entgiftung ist möglich, wenn auch nicht wahrscheinlich, als auch das Freiwerden solcher Substanzen aus adsorptiven oder chemischen Verbindungen mit Stoffen, die durch Trypsin verändert werden. Die letztere Möglichkeit kommt besonders in Betracht bei solchem Ausgangsmaterial, das an sich mit Sicherheit schon pharmakologische Wirkstoffe enthält, wie Muskel- und Lebergewebe. Außerdem wurden noch Gelatine und Casein der Trypsinverdauung unterworfen. Hier ist gleichfalls mit der Möglichkeit zu rechnen, daß in den Handelspräparaten bei der Verarbeitung Wirkstoffe entweder in freier oder gebundener Form enthalten sein können. Die Möglichkeit der Spaltung bis zu den Aminosäuren ist bei allen untersuchten Ausgangsstoffen gegeben, da bei allen Versuchen ein aktiviertes Trypsinpräparat verwendet wurde. Bei den Versuchen mit Muskel- und Lebergewebe sei nebenbei darauf hingewiesen, daß hier während der Versuchszeit nicht nur das zugesetzte Trypsin, sondern auch die im Gewebe enthaltenen Fermente weiter wirken können. Das Endprodukt der Trypsinverdauung, die Aminosäuren, sind fast allgemein ohne pharmakologische Wirkung. Wirksam sind dann wieder die aus ihnen durch Decarboxylierung entstehenden Amine, unter denen dem Histamin im allgemeinen eine erhebliche Bedeutung für die Entstehung krankhafter Zustände zugeschrieben wird. Die Decarboxylierung wird so gut wie ausschließlich durch pflanzliche Fermente, also auch durch Bakterien-Darmfäulnis, bewirkt, während es keineswegs sicher ist, daß tierische Fermente decarboxylierend wirken können. Dies gilt auch für das Trypsin.

Aus dem Gesagten ergab sich die Anordnung für die vorliegenden Versuche. Als Eiweißkörper wurden verwendet Casein und Gelatine; von tierischen Geweben wurden frische Muskulatur und Lebergewebe gewählt. Die genannten Substrate wurden nach Verdauung mit Trypsin als wäßrige und alkoholische Extrakte verarbeitet und auf pharmakologische wirksame Stoffe geprüft.

I. Methodik.

Die Herstellung der wäßrigen Extrakte geschah entweder durch das Dialyseverfahren oder durch Eiweißfällung mit Trichloressigsäure. Zur Gewinnung von Dialysaten wurde der verdaute Ansatz in Dialysierhülsen gefüllt und gegen aqua dest. dialysiert. Nach Neutralisation wurde das Dialysat im Vakuum bei 45—50° Celsius zur Trockene eingeengt, der Rückstand in einer kleinen Menge aqua dest. aufgenommen und als „Dialysat" pharmakologisch untersucht.

Die Eiweißfällung im verdauten Ansatz wurde durch Zusatz von Trichloressigsäure in Substanz bewirkt. Das eiweißfreie Filtrat (Sulfosalizylsäureprobe) wurde durch Aetherextraktion im modifizierten Soxleth-Apparat von der überschüssigen Trichloressigsäure befreit. Die neutralisierte Lösung wurde im Vakuum bei 45—50° C zur Trockene eingeengt, der Rückstand in aqua dest. gelöst und als „Tr.-Filtrat" auf Wirksamkeit untersucht.

Alkoholische Extrakte wurden nach dem von Best, Dale, Dudley und Thorpe[2]) beschriebenen Alkohol-Aceton-Verfahren zum Nachweis histaminähnlicher Substanzen hergestellt. Zu diesem Zwecke wurde das neutralisierte, verdaute Gemisch mit der doppelten Menge 96proz. Alkohol versetzt und nach 24stündigem Stehen im Eisschrank filtriert oder abgenutscht. Das Filtrat wurde mit Schwefelsäure (4 ccm 20proz. Schwefelsäure auf 1000 ccm) angesäuert und nach weiterem 24stündigem Stehen im Eisschrank wieder filtriert, neutralisiert und bei 40—50° C im Vakuum auf 40—70 ccm eingeengt. Durch Zusatz von absolutem Alkohol wurde nunmehr eine 80proz. alkoholische Lösung hergestellt, die mit drei Volumteilen Aceton versetzt wurde. Die entstandene „Acetonfällung" wurde von der überstehenden Flüssigkeit abgetrennt, bei gelinder Wärme eingetrocknet, in aqua dest. gelöst, neutralisiert und in zwei gleiche Teile geteilt. Nach Ansäuern mit Salzsäure (3—4 %) wurde der eine Teil im siedenden Wasserbad 2 Stunden hydrolysiert, nach Abkühlen mit Natronlauge neutralisiert und auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Der zweite Teil wurde ebenso behandelt, aber nicht hydrolysiert.

---

[2]) C. H. Best, H. H. Dale, H. W. Dudley u. W. V. Thorpe, Journ. of physiol. 62, 397 (1920).

„Dialysat", „Tr.-Filtrat", hydrolysierte und nicht hydrolysierte „Acetonfällung" wurden am Blutdruck des Kaninchens in tiefer Aethernarkose und am isolierten Kaninchendünndarm untersucht.

II. Versuche mit Gelatine.

Bei den Versuchen mit Gelatine wurden 200 ccm einer 5proz. Gelatinelösung mit 0,5 g Trypsin, 0,9 g Natriumkarbonat und 4 ccm Toluol versetzt. Das alkalische Gemisch wurde 48 Stunden bei 38° C bebrütet. Die weitere Verarbeitung wurde in der oben beschriebenen Weise durchgeführt.

Die Wirkung des „Tr.-Filtrates" auf den Blutdruck des Kaninchens in tiefer Aethernarkose war eine geringe depressorische. Die Blutdrucksenkung wurde durch Atropin (Ausschaltung cholinähnlicher Stoffe) nur wenig abgeschwächt. Der isolierte Kaninchendünndarm zeigte nach kurz dauernder Erregung eine hemmende Wirkung. Atropin hob die erregende Darmwirkung auf. Der Meerschweinchenuterus wurde durch das „Tr.-Filtrat" erregt. Das Tr.-Filtrat enthielt nach diesem Befunde Stoffe mit adenosinartiger Wirkung; Blutdrucksenkungen am atropinisierten Kaninchen in tiefer Aethernarkose und Darmhemmung. Daneben waren noch geringe Mengen cholinähnlicher Substanzen nachweisbar, Abschwächung der Blutdrucksenkung und Aufhebung der Darmerregung durch Atropin. Histamin oder histaminähnliche Stoffe — erkennbar durch die pressorische Wirkung am Kaninchen in tiefer Aethernarkose und durch die Erregung des atropinisierten Darmes — konnten nicht nachgewiesen werden.

Die „Acetonfällung" senkte den Blutdruck ebenfalls. Auch die teils erregende, teils hemmende Darmwirkung war dieselbe. Atropin schwächte die depressorische Wirkung etwas ab und hob die darmerregende Wirkung auf. Nach Säurehydrolyse war die blutdrucksenkende Wirkung durch Wegfall der adenosinartigen Stoffe schwächer, um auf Atropinzufuhr ganz zu verschwinden. Am Kaninchendarm wirkte das Hydrolysat rein erregend. Atropinvorbehandlung schaltete diese erregende Wirkung aus. Die „Acetonfällung" enthielt somit ebenfalls adenosinartige und cholinähnliche Substanzen.

Durch Trypsinverdauung wurden aus Gelatinen keine pharmakologisch wirksamen Eiweißspaltprodukte freigemacht. Nach Herkunft und Gewinnung der Gelatine ist die Anwesenheit präformierter, adenosinartiger und cholinähnlicher Stoffe ohne weiteres verständlich. Nach den Untersuchungen von Grochowiak[3]) sind diese Stoffe auch im „Tr.-Filtrat" und in der Acetonfällung unverdauter Gelatine enthalten. Die Wirksamkeit der präformierten adenosinartigen und cholinähnlichen Stoffe scheint durch Trypsin nicht beeinträchtigt zu werden.

III. Versuche mit Casein.

In den Caseinversuchen wurden 200 ccm einer 5proz. Caseinlösung (nach Hammarsten) mit 0,2—0,3 g Trypsin, 0,2—0,5 g Natriumkarbonat und 4 ccm Toluol versetzt.

Das alkalische Verdauungsgemisch wurde 50—70 Stunden bei 39° C bebrütet und auf „Dialysat", „Tr.-Filtrat" und „Acetonfällung" verarbeitet.

In allen drei Aufarbeitungen wurden adenosinartige und cholinähnliche Stoffe, aber keine histaminähnliche oder andere wirksame Substanzen nachgewiesen. Der Befund stimmt überein mit den von Dortmann[4]) bei der Pepsinverdauung von Casein gewonnenen Ergebnissen. Die nachgewiesene Wirkung beruht auf der Anwesenheit von präformierten adenosinartigen und cholinähnlichen Stoffen[5]) in der Milch.

IV. Versuche mit Muskelgewebe.

Das Verdauungsgemisch bestand in den Muskelversuchen aus 50 g frischer, in der Fleischmaschine zerkleinerter Kaninchenmuskulatur, 200 ccm aqua dest., 1,5 g Natriumcarbonat, 0,5 g Trypsin und 4 ccm Toluol. Der alkalische Ansatz wurde 48—70 Stunden bei 39° C bebrütet und in der oben angegebenen Weise behandelt.

---

[3]) J. Grochowiak, Inaug.-Dissertation, Münster i. W. (in Vorbereitung).
[4]) Dortmann, Inaug.-Dissertation Münster i. W. 1935.
[5]) A. Wenzel, Inaug.-Dissertation Münster i. W. 1932.

Der Blutdruck des Kaninchens in tiefer Aethernarkose wurde durch das „Tr.-Filtrat“ und die „Acetonfällung“ stark gesenkt. Atropinvorbehandlung schwächte die depressorische Wirkung nur wenig ab. Dagegen wurde die blutdrucksenkende Wirkung durch Säurehydrolyse stark gehemmt. Der Kaninchendarm wurde nur in hemmendem Sinne beeinflußt. Selbst nach der Säurehydrolyse war diese hemmende Wirkung, wenn auch stark abgeschwächt, noch vorhanden.

Wie bei den Papainversuchen von Surmann[6]) und in den Pepsinversuchen von Dortmann[7]) wurden durch die Trypsinverdauung präformierte, adenosinartige und in geringer Menge auch cholinähnliche Stoffe aus dem Muskelgewebe freigemacht. Die Menge der adenosinartigen Stoffe überwiegt bei weitem den Gehalt an cholinähnlichen Substanzen. Die Befunde von Zipf[8]) werden durch diese Versuche ebenso wie durch die Ergebnisse von Surmann[6]) und Dortmann[7]) bestätigt. Der Hauptanteil der depressorischen Wirkung von frischen Muskelextrakten beruht auf dem Gehalt an adenosinartigen Stoffen. Aus Muskelgewebe wurde durch Trypsin kein Histamin gebildet und, da präformiert nicht vorhanden, auch nicht freigemacht. Andere pharmakologisch wirksame aktive Eiweißabbauprodukte entstanden nicht.

V. Versuche mit Lebergewebe.

Der Ansatz zu den Leberversuchen enthielt 50 g frische, in der Fleischmaschine fein zerkleinerte Kaninchenleber, 200 ccm aqua dest., 0,5 g Trypsin, 1,5 g Natriumcarbonat und 4 ccm Toluol. Dieses Gemisch wurde 30—40 Stunden bei einer Temperatur von 39° C gehalten und anschließend auf „Tr.-Filtrat“ und „Acetonfällung“ in der oben angegebenen Weise verarbeitet.

Auch die Extrakte aus verdauter Leber enthielten im wesentlichen adenosinartige Stoffe; denn der Blutdruck des mit Atropin vorbehandelten Kaninchens in tiefer Aethernarkose wurde gesenkt. Dazu verschwand die depressorische Wirkung nach Säurehydrolyse fast voll-

---

[6]) Surmann, Inaug.-Dissertation Münster i. W. 1935.
[7]) Dortmann, Inaug.-Dissertation Münster i. W. 1935.
[8]) K. Zipf, Klin. Wschr. 10. Jg., 1521 (1931).

ständig. Ein kleiner Teil der blutdrucksenkenden Wirkung konnte durch Atropin ausgeschaltet werden. Daraus läßt sich auf kleine Mengen cholinähnlicher Substanzen schließen. Die Wirkung am Darm ist eine Adenosinwirkung. Auch die Leber enthielt kein Histamin oder histaminähnliche Stoffe. Die Trypsinwirkung führte nicht zur Bildung von histaminähnlichen Stoffen oder anderen proteinogenen Wirkstoffen. Wie im Muskel, so sind auch in der frischen Leber adenosinartige Stoffe vorgebildet und werden durch die Trypsinverdauung nur freigelegt.

VI. Zusammenfassung.

1. Dialysate, Trichloressigsäureextrakte und Alkohol-Acetonfällungen aus Trypsinverdauungsgemischen von Gelatine, Casein, Muskel- und Lebergewebe des Kaninchens enthalten nur präformierte adenosinartige und cholinähnliche Stoffe.
2. Histamin und histaminähnliche Substanzen entstehen bei der Trypsinverdauung von Gelatine, Casein, Muskel- und Lebergewebe nicht.
3. andere proteinogene Wirkstoffe werden bei der Trypsinverdauung aus den genannten Stoffen nicht gebildet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547203_0080

Lebenslauf.

Am 21. September 1909 wurde ich in Langenberg im Rheinland geboren. Nach vierjährigem Besuch der Vorschule trat ich Ostern 1920 in die Sexta der Bessel-Oberrealschule in Minden i. W. ein und bestand im Frühjahr 1929 an dieser Anstalt das Abiturientenexamen.

Dann studierte ich Medizin an den Universitäten Münster, Freiburg, Rostock und Graz. Das Staatsexamen bestand ich im Januar 1935 in Münster. Zurzeit bin ich als Medizinalpraktikant am Städt. Krankenhaus in Bielefeld tätig.

Alfred Krumfuß.